

核酸提取纯化试剂说明书

【产品名称】 干血斑基因组 DNA 提取纯化试剂盒

(英文名称: Blood Spots Genomic DNA Purification Kit)

【包装规格】 96T/盒、100 T/盒

【适用范围】 干血斑或血液样本

【原理】 干血斑在裂解液和蛋白酶 K 的共同作用下破碎, 释放出基因组 DNA。在裂解缓冲液中纳米磁珠颗粒通过表面修饰的功能基团能与游离的 DNA 特异性的结合, 形成磁珠-DNA 复合物。在外磁场力的作用下, 将磁珠-DNA 复合物转移到洗涤缓冲液中, 洗去多余的杂质。再在外磁场力的作用下转移到洗脱缓冲液中, 将 DNA 洗脱回收。

【主要组成成分】

| 货号 | 121601 | 121602 | 主要成分 |
|-----------------|--------|---------------------------|---------------------|
| 试剂盒规格 | 100T | 96T | |
| 消化液(Buffer STE) | 40mL | 40mL | 缓冲溶液 |
| 蛋白酶 K | 2mL | 2mL | 蛋白酶 K 溶液 |
| Buffer ATL | 50mL | 6*16 人份/块或 5*96 人份(1套) | 强变性剂与 Tris 缓冲液, 异丙醇 |
| Buffer WA | *27mL | | 高盐溶液 |
| Buffer WB | *24mL | | 低盐溶液 |
| Buffer DE | 6mL | | 低盐溶液 |
| 磁珠 | 1.5mL | | 羟基磁珠溶液 |
| 说明书 | 1 | 1 | |

注意: 1.若购买的是 121601, 使用前请在*27mL WA 中加入 33mL 无水乙醇, 以及在*24mL WB(每瓶)中加入 96mL 无水乙醇;

2. 本试剂盒不提供无水乙醇(分析纯),请用户自备;

【储存及有效期】

1. 试剂盒可在常温保存。
2. 试剂盒有效期为 12 个月, 请在有效期内使用, 试剂盒开封后, 1 个月内用完。

【适用设备与仪器】

磁性分离架或 MyPure32 或 96plus 系列全自动核酸提取仪、恒温振荡器、涡旋振荡器、恒温金属浴。

【样本要求】

1. 样本: 按照滤纸干血斑采集方法进行采集。
2. 保存: 上述采集的待测样本可立即处理, 或在密封, 干燥(湿度低于 30%), 2-8℃保存(可

保存 5 年)。

3. 运输: 需将滤纸干血斑密封, 采用泡沫箱加冰运输。

【操作方法】

一、若购买的是 121601, 请按照以下手工提取方法进行操作(用户需自备磁性分离架)。

1. 样本前处理:

向 1.5mL 离心管中加入 3-6 片直径为 3mm 的干血斑样品, 加入合适体积(350-400μL)消化液(Buffer STE)和 20μL 蛋白酶 K, 涡旋振荡 10sec 混匀。

2. 56℃, 1000rpm 恒温振荡 30-45min, 短暂离心备用。

3. 取 300μL 干血斑处理液到新的 1.5mL 离心管中。

4. 加入 500μL Buffer ATL, 剧烈振荡混匀 25s。

5. 56℃温浴 10min, 期间每隔 2-3min 颠倒混匀一次。

6. 将离心管从 56℃金属浴上移开。加入 15μL 混合均匀的磁珠, 轻柔的上下颠倒混匀离心管, 室温放置 5min, 期间每隔 1min 上下颠倒混匀。

7. 将离心管放入磁性分离架, 使其吸附磁珠, 磁吸时间 1min, 吸弃上清, 从磁性分离架上移走离心管。

8. 加入 600μL Buffer WA 到离心管中, 振荡混匀, 尽可能使磁珠完全分散, 使用磁性分离架吸附磁珠, 吸弃上清, 从磁性分离架上移走离心管。

9. 加入 600μL Buffer WB 到离心管中, 上下颠倒混匀, 确保磁珠完全分散, 使用磁性分离架吸附磁珠, 吸弃上清。

10. 从磁性分离架上移走离心管, 重复步骤 9 重新洗涤一次。

注: 此步骤应尽可能吸弃上清, 以保证提取核酸的质量。

11. 室温开盖干燥 5min。

12. 加入 60μL DE, 振荡混匀离心管, 此时离心管壁可能会吸附磁珠, 应使用移液器将其吹打下来。室温静置 10min, 期间每隔 2-3min 混匀一次。

注:

13. 使用磁性分离架吸附磁珠, 小心吸取含 DNA 的上清转移到干净无菌的离心管中备用。若不立即使用, 请放入-20℃保存备用。

二、配套自动化仪器使用, MyPure32 系列全自动核酸提取仪为例。

1. 按照手工操作步骤 1-2 处理干血斑样本。

2. 试剂准备

a. 若购买的是 121601 请按照如下操作方式进行。

在 96 孔深孔板的第 1、7 列中各加入 500μL Buffer ATL, 在第 2、8 列中各加入 600μL Buffer WA(已加入无水乙醇)和 15μl 磁珠溶液, 在第 3、4 列和 9、10 列中各加入 600μL Buffer WB(已加入无水乙醇), 在第 6、12 列中各加入 60μL Buffer DE。(注意: 磁珠在使用前必须充分混匀)。

b. 若购买的是 121602 请按照如下操作方式进行。

将室温放置的 96 孔试剂板颠倒 3-5 次, 有条件的用户可以在去除塑封膜前在 96 孔板离心机中短暂离心, 若没有离心机也可以手甩, 避免挂液, 影响实验结果。小心撕去塑封膜, 确认板子的方向 (磁珠在 2/8 列)。

3. 在 96 孔板的第 1、7 列中各加入 300μL 干血斑洗脱产物, 避免交叉污染。

注: 取样前务必剧烈涡旋振荡, 确保细胞被充分洗脱下来。

4. 将 96 孔板放入 MyPure32 系列全自动核酸提取仪的指定位置中, 装上磁棒护套。

5. 请按以下程序进行实验。

| 名称: blood sport | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----------------|-----|---------|--------|---------|----------|---------|---------|---------|--------|--------|-----------|-----------|----------|-----------|-----------|----------|--------|
| 步骤 | 孔位 | 液量 (μL) | 浸泡 (秒) | 搅拌强度(级) | 搅拌时间 (秒) | 下降吸磁(秒) | 液底吸磁(秒) | 吸磁次数(次) | 等待 (秒) | 暂停 关/开 | 板1裂1 (°C) | 板1裂2 (°C) | 板1脱 (°C) | 板2裂1 (°C) | 板2裂2 (°C) | 板2脱 (°C) | 风扇 关/开 |
| 1-99 | 1~6 | 20~1000 | 0~255 | 1~6 | 0~9999 | 5~600 | 0~255 | 0~255 | 0~9999 | 0/1 | 0~125 | 0~125 | 0~125 | 0~125 | 0~125 | 0~125 | 0/1 |
| 1 | 1 | 800 | 0 | 5 | 300 | 5 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 6 | 600 | 0 | 5 | 15 | 60 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 3 | 1 | 800 | 0 | 5 | 300 | 60 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 4 | 2 | 600 | 0 | 5 | 60 | 60 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5 | 3 | 600 | 0 | 5 | 60 | 60 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 6 | 4 | 600 | 0 | 5 | 60 | 60 | 3 | 1 | 120 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 7 | 6 | 60 | 0 | 3 | 300 | 60 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 | 65 | 0 | 0 | 65 | 1 | 0 |
| 8 | 4 | 600 | 0 | 3 | 15 | 5 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

6. 仪器程序运行结束后, 将第 6、12 列的 Buffer DE 转移至干净的无菌离心管中, 若不立即使用, 请放入-20℃保存备用。

备注: 若使用 MyPure96plus 仪器提取, 请参考程序:

编号: 211125-130042 名称: Blood spot

| 步骤 | 板位 | 液量 (μL) | 搅拌强度(级) | 搅拌时间(秒) | 下降吸磁(秒) | 液底吸磁(秒) | 吸磁次数(次) | 等待 (秒) | 暂停 关/开 | 加热1 (°C) | 风扇 关/开 | 每步说明 |
|----|-----|---------|---------|---------|---------|---------|---------|--------|--------|----------|--------|-------|
| 9 | 1~8 | 20~1000 | 1~6 | 0~9999 | 5~600 | 0~255 | 0~255 | 0~9999 | 0/1 | ~125 | 0/1 | |
| 1 | 800 | 3 | 300 | 5 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 裂解DNA |
| 2 | 600 | 3 | 15 | 60 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 转移磁珠 |
| 1 | 800 | 3 | 300 | 60 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 结合DNA |
| 2 | 600 | 5 | 60 | 60 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 漂洗1 |
| 3 | 600 | 5 | 60 | 60 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 漂洗2 |
| 4 | 600 | 5 | 60 | 60 | 3 | 1 | 120 | 0 | 0 | 0 | 0 | 漂洗3 |
| 5 | 60 | 3 | 300 | 60 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 洗脱 |
| 4 | 600 | 5 | 0 | 15 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 弃磁套 |

【产品性能参考数值】

提取 DNA OD260/280 比值: 1.7-2.0。

【产品局限性】

样本量: 1. 若需处理 > 7 片干血斑样本, 请适当增加消化液(Buffer STE)体积。

2. 干血斑洗脱产物上样量体积不超过 300μL, 体积不足 200μL 需要补足到 200μL。

3. 全血样品, 适当减少样本至 100μl。

结果解释: 本试剂盒手工提取的效果可能会比仪器提取稍低, 可能是人为手工操作的误差造成。

【注意事项】

1. Buffer WA 和 Buffer WB 请按要求加入无水乙醇 (分析纯)。

2. 如果室温过低, Buffer ATL 可能会有少许晶体析出, 只需将其加入 55℃ 的水浴锅中预热 5-10min, 确认无晶体析出后再使用, 对提取结果无影响。

3. 收到试剂盒后应将蛋白酶 K 储存在 2-8℃。

4. 上述程序仅适用于 MyPure32 系列等适合尖底裙边板的全自动核酸提取仪, 如果用户使用其他品牌的核酸提取仪, 需根据实际使用的仪器性能进行调整。

5. 试剂可能刺激眼睛、皮肤或黏膜, 一旦直接接触, 请立即使用大量清水冲洗。

【基本信息】

生产企业: 广州赛百纯生物科技有限公司

地址: 广州市瑞发路 12 号自编 3 栋 401 单元。

服务热线: 18926136067

邮编: 510600

网址: <http://www.surbiopure.com>